

BETA-D-GLUCAN AND ITS PRODUCTION AND USE

Publication number: JP62201901

Publication date: 1987-09-05

Inventor: MISAKI AKIRA; SONE YOSHIKI; MIHASHI
MASAKAZU; MIYAKE TOSHIO

Applicant: HAYASHIBARA BIOCHEM LAB

Classification:

- International: A61K47/36; A23P1/00; A23P1/02; A61K31/715;
A61K47/00; A61P35/00; A61P37/00; C08B37/00;
C12P19/04; C12R1/645; A61K47/36; A23P1/00;
A23P1/02; A61K31/715; A61K47/00; A61P35/00;
A61P37/00; C08B37/00; C12P19/00; (IPC1-7):
A23P1/00; A23P1/02; A61K31/715; A61K47/00;
C08B37/00; C12P19/04; C12R1/645

- European: C08B37/00M3; C12P19/04

Application number: JP19860044189 19860303

Priority number(s): JP19860044189 19860303

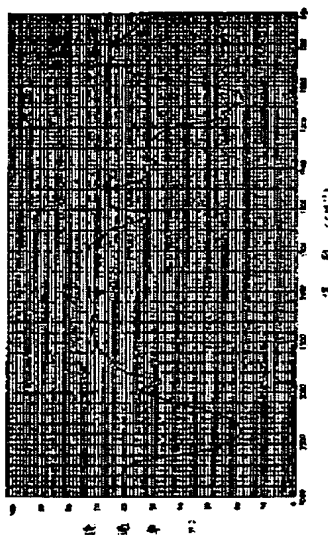
Also published as:

EP0236124 (A2)
US4965347 (A1)
EP0236124 (A3)
EP0236124 (B1)

Report a data error here

Abstract of JP62201901

PURPOSE:To obtain a beta-D-glucan useful as an antitumoral agent, a paste for food or the like advantageously in good productivity, by cultivating microorganisms of the genus *Aureobasidium* and collecting the product from the culture. **CONSTITUTION:**Microorganism of the genus *Aureobasidium* (e.g., *Aureobasidium pullulans*, IFO 4464) are cultivated, and the product is collected to obtain the purpose beta-D-glucan (aureobasilan). This compound shows a composition of C 44.1%, H=6.18%, N<0.1% and ash <0.01% in an elementary analysis, a MW (gel permeation chromatography) of 100,000-500,000 and a m.p. of about 230 deg.C (decomposed). It has a specific rotation $[\alpha]_D^{25}$ of + or -4 deg., and an IR absorption spectrum shown in the figure, is readily soluble in 0.5N NaOH and dimethyl sulfoxide, soluble in water and insoluble in methanol and acetone and is positive to the anthrone-sulfuric acid reaction and the phenol-sulfuric acid reaction and negative to the carbazole reaction, etc.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-201901

⑬ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)9月5日

C 08 B 37/00
C 12 P 19/04
// A 23 P 1/00
1/02
A 61 K 31/715
47/00

ABA
ADU
3 3 6

6779-4C
A-8515-4B
7110-4B
7110-4B
7252-4C
7252-4C
B-6742-4C
A-6742-4C
D-6742-4C
H-6742-4C

(C 12 P 19/04
C 12 R 1:645)

審査請求 未請求 発明の数 3 (全16頁)

⑮ 発明の名称 β -D-グルカンとその製造方法及び用途

⑯ 特 願 昭61-44189

⑰ 出 願 昭61(1986)3月3日

⑱ 発 明 者 三 崎 旭 神戸市東灘区深江南町1丁目1番58-355号
⑱ 発 明 者 曾 根 良 昭 泉佐野市鶴原219番の8
⑱ 発 明 者 三 橋 正 和 岡山市小橋町1丁目4番11号
⑱ 発 明 者 三 宅 俊 雄 岡山市奥田1-7番10-403号
⑰ 出 願 人 株式会社 林原生物化学研究所 岡山市下石井1丁目2番3号

明 細 書

1. 発明の名称

 β -D-グルカンとその製造方法及び用途

2. 特許請求の範囲

(i) 理化学的性質が、

a 元素分析

C ≒ 44.1% H ≒ 6.18%
N < 0.1% 灰分 < 0.01%

b 分子量(ゲル透過法)

100,000乃至500,000

c 融 点

約230℃で分解

d 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$
($c=1$, $c=1.0\%$ 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶
水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応 陽性
フェノール-硫酸反応 陽性
カルバゾール反応 陰性
ニンヒドリン反応 陰性
ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

i 物 性

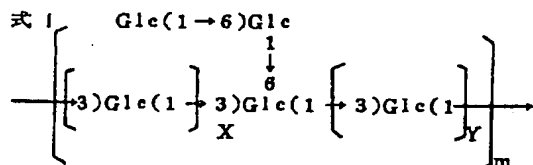
粉末品は白色

を示す β -D-グルカン(オーレオバシラン)。(2) β -D-グルカンが、メチル化分析法により、

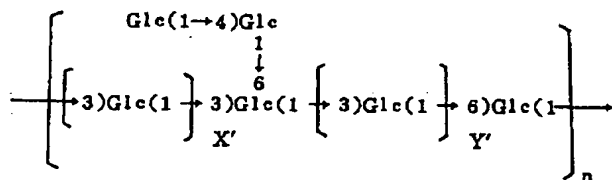
2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11乃至15モル、
2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル

-D-グルコース 0.6乃至1.0モルおよび
2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8
乃至1.2モルのモル比を示す β -D-グルカン
(オーレオバシランA)であるか、または、
2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコ
ース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-
メチル-D-グルコース 3乃至5モル、2,3,4-
トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3乃
至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-
グルコース 0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ
-O-メチル-D-グルコース 0.9乃至1.2
モルのモル比を示す β -D-グルカン(オーレ
オバシランB)であることを特徴とする特許請
求の範囲第(1)項記載の β -D-グルカン(オー
レオバシラン)。

(3) β -D-グルカンが、繰り返し単位として、



および式 II



(但し、式中、Glcは β 結合したD-グルコ
ピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、
X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の
整数を示し、mおよびnは、その比が1:3
乃至5を示す。)

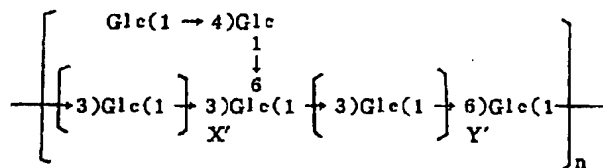
で表される β -D-グルカン(オーレオバシラ
ンB)であることを特徴とする特許請求の範囲
第(1)項または第(2)項記載の β -D-グルカン。

(4) オーレオバシディウム属に属する微生物を培
養し、その培養物から、
理化学的性質が、

a 元素分析

C ≒ 44.1% H ≒ 6.18%
N < 0.1% 灰分 < 0.01%

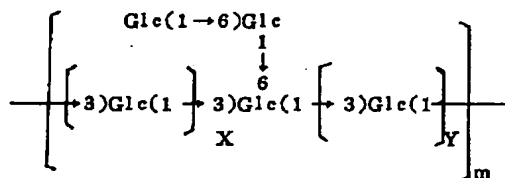
および式 II



(但し、式中、Glcは β -結合したD-グルコ
ピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、
X+YまたはX'+Y'が11乃至15になる1以上
の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3
乃至5を示す。)

で表される β -D-グルカン(オーレオバシラ
ンA)であるか、または、

式 I



b 分子量(ゲル濾過法)

100,000乃至500,000

c 融点

約230℃で分解

d 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$

($l=1$, $c=1.0\%$ 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、ク

ロロホルムに不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応 陽性

フェノール-硫酸反応 陽性

カルバゾール反応 陰性

ニンヒドリン反応 陰性

ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

i 物 性

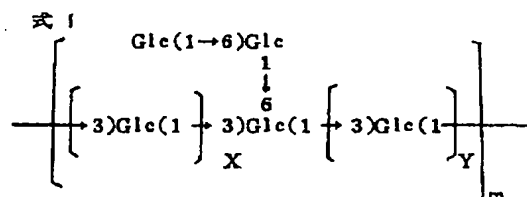
粉末品は白色

を示す β -D-グルカンを採取することと特徴とする β -D-グルカン(オーレオパンラン)の製造方法。

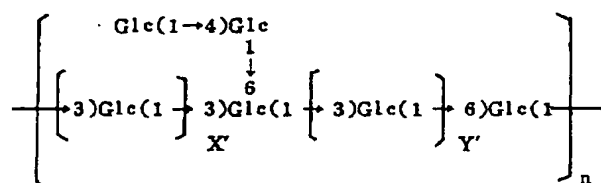
- (5) β -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モルのモル比を示す β -D-グルカン(オーレオパンランA)であるか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-

D-グルコース 3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.9乃至1.2モルのモル比を示す β -D-グルカン(オーレオパンランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第(4)項記載の製造方法。

- (6) β -D-グルカンが、繰り返し単位として、

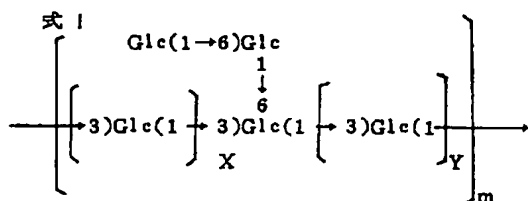


および式 II

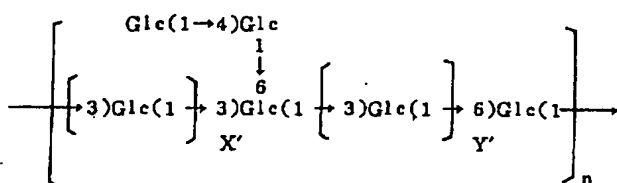


(但し、式中、Glcは β -結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が11乃至15になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される β -D-グルカン(オーレオパンランA)であるか、または、



および式 II



(但し、式中、Glcは β -結合したD-グルコピ

ラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される β -D-グルカン(オーレオパンランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第(4)項または第(5)項記載の製造方法。

- (7) β -D-グルカン(オーレオパンラン)を微生物菌体または酵母細胞壁からアルカリ性水溶液で溶出採取することを特許請求の範囲第(4)項、第(5)項または第(6)項記載の製造方法。
- (8) β -D-グルカン(オーレオパンラン)とともにプルランを採取することと特徴とする特許請求の範囲第(4)項、第(5)項または第(6)項記載の製造方法。

- (9) 理化学的性質が、

a 元素分析

C ≒ 44.1% H ≒ 6.18%
N < 0.1% 灰分 < 0.01%

b 分子量 (ゲル透過法)

100,000 乃至 500,000

c 融 点

約 230 °C で分解

d 比旋光度

 $[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$

(c=1, c=1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル (KBr 錠剤法)

図面に示す

f 溶 解 性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、ク

ロホルムに不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応 陽性

フェノール-硫酸反応 陽性

カルバゾール反応 陰性

ニンヒドリン反応 陰性

ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の 0.1% 水溶液は中性乃至微酸性

i 物 性

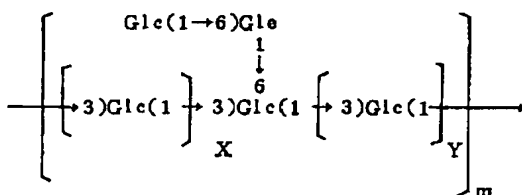
粉末品は白色

を示す β -D-グルカン (オーレオバシラン)、または該 β -D-グルカン (オーレオバシラン) を過沃素酸若しくはその水溶性塩で酸化処理し、次いで、還元処理して得られるポリオール型 β -D-グルカン (ポリオール型オーレオバシラン) を含有せしめたことを特徴とする組成物。

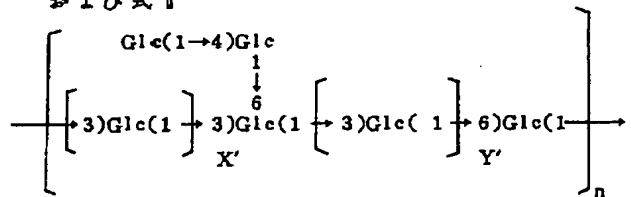
00 β -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0 モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11 乃至 15 モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8 乃至 1.2 モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.6 乃至 1.0 モルおよび 2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8 乃至 1.2 モルのモル比を示す β -D-グルカン (オーレオ

バシラン A) であるか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0 モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 3 乃至 5 モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3 乃至 0.5 モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.2 乃至 0.4 モルおよび 2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.9 乃至 1.2 モルのモル比を示す β -D-グルカン (オーレオバシラン B) であることを特徴とする特許請求の範囲第 (9) 項記載の組成物。

00 β -D-グルカンが、繰り返し単位として、式 I



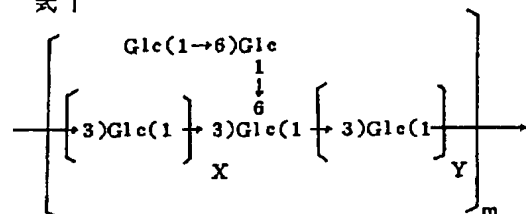
および式 II



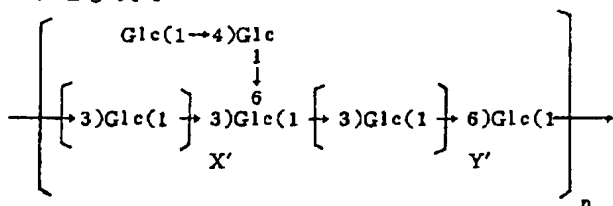
(但し、式中、Glc は β -結合した D-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X' および Y' は、X+Y または X'+Y' が 11 乃至 15 になる 1 以上の整数を示し、m および n は、その比が 1:3 乃至 5 を示す。)

で表される β -D-グルカン (オーレオバシラン A) であるか、または、

式 I



および式Ⅱ



(但し、式中、Glcは β 結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される β -D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項または第(10)項記載の組成物。

02 組成物が成形物であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項、第(10)項または第(11)項の組成物。

03 組成物が、飲食物であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項、第(10)項、第(11)項または第(12)項の組成物。

e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに不溶

g 呈色反応

アントロニー硫酸反応 陽性

フェノール硫酸反応 陽性

カルバゾール反応 陰性

ニンヒドリン反応 陰性

ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸性

i 物性

粉末品は白色

を示す新規な β -D-グルカン(オーレオバシラン)とその製造方法及び用途に関する。

04 組成物が、抗腫瘍剤であることを特徴とする特許請求の範囲第(9)項、第(10)項、第(11)項または第(12)項記載の組成物。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、化学工業、食品工業、医薬品工業など幅広い用途を持つ新規な β -D-グルカン(オーレオバシラン)とその製造方法及び用途に関するものである。

更に詳細には、理化学的性質

a 元素分析

C ≒ 44.1% H ≒ 6.18%

N < 0.1% 灰分 < 0.01%

b 分子量(ゲル濾過法)

100,000 乃至 500,000

c 融点

約230℃で分解

d 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$

($l=1$ 、 $c=1.0\%$ 1N-NaOH)

(従来の技術)

β -D-グルカンのある種のものは、血糖低下作用、コレステロール低下作用、細胞性免疫機構を介しての抗腫瘍作用などの生理作用を示すことが知られており、医薬若しくはその原料として注目されている。

なかでも、悪性腫瘍に対して抗腫瘍活性を示し、抗腫瘍剤として注目されている β -D-グルカンとしては、例えば、H. Saito et al., Agr. Biol. Chem., Vol. 32, 1261-1269 (1968)で報告されているパキマン(Pachyman)、T. Sasaki et al., Carbohydrate Res., Vol. 47, 99-104 (1976)で報告されているレンチナン(Lentinan)、K. Tabata et al., Carbohydrate Res., Vol. 89, 121-135 (1981)で報告されているシゾフィラン(Shizophyllan)、A. Misaki et al., Carbohydrate Res., Vol. 92, 115-129 (1981)で報告されている β -D-グルカンなどがある。

しかしながら、これら β -D-グルカンは、担子菌の子実体を原料とすることから、製造に長期

間を要するだけでなく、その生産量も不十分である。

(本発明の解決しようとする問題点)

本発明者等は、用途が医薬品工業のみならず、食品工業、化学工業など、その他多くの工業分野にも利用できる新しい β -D-グルカンの開発を目的に鋭意研究した。

その結果、オーレオバシディウム(Aureobasidium)属に属する微生物を培養して、その培養物中に、理化学的性質が、

a 元素分析

C ≒ 44.1 % H ≒ 6.18 %
N < 0.1 % 灰分 < 0.01 %

b 分子量(ゲル濾過法)

100,000 乃至 500,000

c 融点

約 230 °C で分解

d 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$
($l=1$, $c=1.0\%$ 1N-NaOH)

テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0 モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11 乃至 15 モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8 乃至 1.2 モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.6 乃至 1.0 モルおよび 2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8 乃至 1.2 モルのモル比を示すか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0 モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 3 乃至 5 モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3 乃至 0.5 モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.2 乃至 0.4 モルおよび 2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.9 乃至 1.2 モルのモル比を示す新規構造の β -D-グルカンを見いだした。

この β -D-グルカンは、R. G. Brown et al., Acta Chem. Scand., Vol. 21, 2379 - 2382 (1967) で報告されているオーレオバシディウム プルランスからの多糖類とも明らかに異っていることが

e 赤外線吸収スペクトル(KBr 錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶
水に可溶
メタノール、エタノール、アセトン、クロホルムに不溶

g 呈色反応

アントロン-硫酸反応	陽性
フェノール-硫酸反応	陽性
カルバゾール反応	陰性
ニンヒドリン反応	陰性
ヨード反応	陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の 0.1 % 水溶液は中性乃至微酸性

i 物性

粉末品は白色

を示す β -D-グルカン、とりわけ、 β -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-

判明した。

本発明者等は、この新規な β -D-グルカンをオーレオバシラン(Aureobasillan)と命名した。

このオーレオバシランは、次のような理化学的性質を有していることから、新規な β -D-グルカンであることが認められる。

a 元素分析

実測値	C ≒ 44.1 %	H ≒ 6.18 %
	N < 0.1 %	灰分 < 0.01 %
計算値	C = 44.4 %	H = 6.17 %

b 分子量(ゲル濾過法)

100,000 乃至 500,000

c 融点

約 230 °C で分解

d 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$
($l=1$, $c=1.0\%$, 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr 錠剤法)

図面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶

水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロ
ロホルムに不溶

g 呈色反応

アントロニー硫酸反応 陽性

フェノール硫酸反応 陽性

カルバゾール反応 陰性

ニンヒドリン反応 陰性

ヨード反応 陰性

h 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の0.1%水溶液は中性乃至微酸
性

i 物 性

粉末品は白色

j 構 成 糖

無機酸または有機酸、例えば72%硫酸に室
温で5分間放置後、7倍に水で希釈し100
℃で4乃至5時間保つか、または、2M-

トリクロロ酢酸に100℃で6時間加熱する
などの方法により完全加水分解して得られ
る糖は、ペーパークロマトグラフィー、ガ
スクロマトグラフィー、およびグルコース
オキシダーゼ・パーオキシダーゼ法による
分析結果からD-グルコースであることが
判明した。

k 結合様式

(i) 比旋光度が $[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$ と低い値を示すこ
と、および赤外線吸収スペクトルが 890 cm^{-1}
附近に吸収を示すことから、オーレオパシラ
ンを構成するすべての、若しくはほとんど
のグルコース残基は、 β -結合をしている。

(ii) メチル化分析法、すなわち、オーレオパシ
ランをジメチルスルホキシドに溶解後、メチ
ルスルフィニルカルバニオンおよび沃化メチ
ルを用いる箱守法でメチル誘導体に移し、こ
れを酸で加水分解し、更にメチル化糖をアル
デイトール アセテートに移し、ガスクロ
マトグラフィー、ガスクロマトグラフィー・

質量分析により分析すると、その生成物は次
のモル比を有する。

比較的分子量であって、DEAE-セルロ
ースに非吸着性のオーレオパシラン(オーレ
オパシランAと命名する。)は、2,3,4,6
-テトラ-O-メチル-D-グルコース
1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メ
チル-D-グルコース 11乃至15モル、
2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコ
ース 0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O
-メチル-D-グルコース 0.6乃至1.0モ
ルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グル
コース 0.8乃至1.2モルを示す。

比較的高分子量であって、DEAE-セル
ロースに吸着性のオーレオパシラン(オーレ
オパシランBと命名する。)は、2,3,4,6
-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0
モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル
-D-グルコース 3乃至5モル、2,3,4
-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3

乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル
-D-グルコース 0.2乃至0.4モルおよび
2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース
0.9乃至1.2モルのモル比を示す。

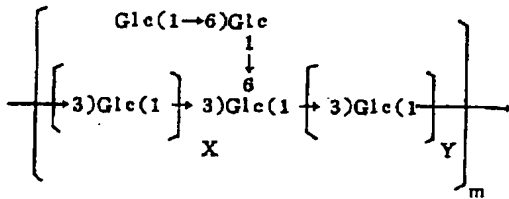
(iii) 緩和スミス分解で得られた水不溶性の高分
子画分をメチル化後、酸加水分解すると、大
量の2,4,6-トリ-O-メチル-D-グル
コースと少量の2,3,4,6-テトラ-O-メ
チル-D-グルコースを生成する。

また、オーレオパシランにエンド型 β -1,3
グルカナーゼを作用させると、その生成物に
は、主にラミナリビオース、少量のグルコ
ースおよび更に少量の 2β -O- β -グルコシル
ラミナリビオースを含有する。これらの事実
は、 β -1,6結合のかなりの部分が β -1,3
結合を繰り返している主鎖中に β -1,3結合
と隣接した形で組み込まれていることを示す
ものである。

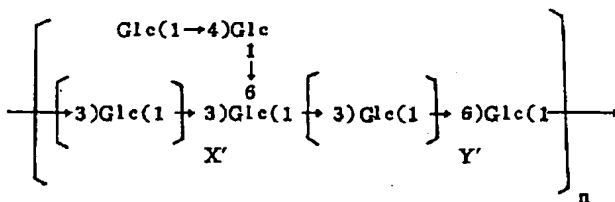
以上の事実から、本発明のオーレオパシランは、
従来から知られている β -D-グルカンとは全く

異なり、 $\beta-1,3$ 結合を繰り返している主鎖中に一定の割合で $\beta-1,6$ 結合を有していること、および主鎖を形成するグルコース残基から一定の割合でそのグルコース残基のC6位から短かい側鎖を分岐しており、更に、その側鎖には $\beta-1,6$ 結合以外にかなりの量の $\beta-1,4$ 結合を有している $\beta-D$ -グルカンである。上述の結果を総合的に判断すると、オーレオバシランの構造式は、繰り返し単位が、

式 1



および式 1

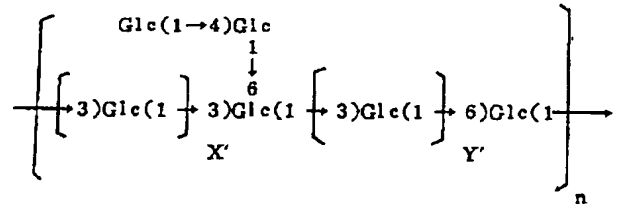


(但し、式中、Glcは β -結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される $\beta-D$ -グルカン(オーレオバシランB)であることが判明した。

本発明のオーレオバシランを製造する方法としては、例えば、オーレオバシディウム ブルランス(*Aureobasidium pullulans*) IFO 4464、IFO 4875、IFO 6353、IFO 6401、IFO 6725、オーレオバシディウム マンソーニ(*Aureobasidium mansonii*) IFO 9233などを、炭素源、窒素源、無機塩などの適当な栄養源を含

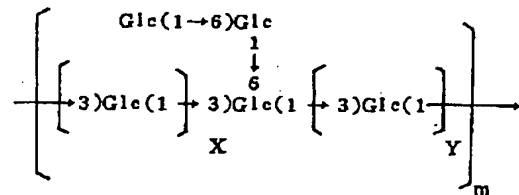
および式 1



(但し、式中、Glcは β -結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が11乃至15になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される $\beta-D$ -グルカン(オーレオバシランA)であるか、または、

式 1



有する固体培地、または液体培地に植菌して静置または通気攪拌などの培養方法で培養し、培養物中にオーレオバシランを産生せしめ、これを分離し採取すればよい。

また、培養物中に、オーレオバシランとともにブルランを生成蓄積せしめ、両者を分離し採取することもきわめて有利に実施できる。

培地の栄養源としては、本発明のオーレオバシランを産生し得るものであればよく、炭素源としては、グリセロール、キシロース、グルコース、ソルビトール、フラクトース、マルトース、イソマルトース、マルチトール、シュクロース、ラクトース、セロビオース、マルトリオース、マルトテトラオース、DE 10乃至70の澱粉部分分解物、蔗糖蜜などが適している。オーレオバシランとともにブルランを産生させる場合には、これら糖類を約3乃至20w/v%含有せしめた液体培地を用いて好氣的条件で培養するのが好適である。窒素源としては、硝酸塩、アンモニウム塩、尿素などの合成化合物やポリペプトン、酵母エキス、

麦芽エキス、コーンステイーブリカー、脱脂大豆抽出物、ペプチド、アミノ酸などの天然有機物などが適宜利用できる。また、無機塩としては、リン酸塩、カリウム塩、硫酸塩、マグネシウム塩、必要に応じて鉄塩、マンガン塩、カルシウム塩などが適宜選択できる。

培養時の pH、温度は、該微生物が生育しオーレオバシランを産生しうる条件であればよく、通常、pH 2.0 乃至 9.0、温度 15 乃至 35℃が選ばれる。また、培養期間は、オーレオバシランの産生量が最大になる期間が選ばれ、通常、液体培地で通気攪拌する場合 1 乃至 10 日間である。

培養物からオーレオバシランを分離採取する方法としては、例えば、前記液体培養物をろ過または遠心分離などの方法で微生物菌体を分離し、この菌体から採取する。この際、ブルランを採取する場合には、菌体を分離した上清または上清から常法に従って採取すればよい。

菌体からオーレオバシランを採取する方法は、菌体またはその破砕物から得られる細胞壁に、例

が適宜選択できる。

このようにして得られたオーレオバシランから、ポリオール型オーレオバシランを製造するには、オーレオバシラン 1 重量部（以下、本明細書では重量部を部と略称する。）に約 0.01 乃至約 0.5 M の過炭素酸若しくはその水溶性塩、例えば、メタ過炭素酸ナトリウム、メタ過炭素酸カリウムを含む水溶液約 50 乃至 500 部に溶解、または懸濁させ、通常 pH 3 乃至 8 の範囲で反応させる。この操作は、通常、緩やかな条件、例えば、暗所で室温以下の温度、望ましくは 15℃以下で 1 乃至 5 日間行ない酸化反応を終了させればよい。このようにして得られる主として側鎖部分が酸化されたポリアルデヒド型オーレオバシランは、反応性に富んでおり、例えば、共有結合による固定化酵素の担体などとして有利に利用できる。

更に、還元するには、酸化反応液にエチレングリコールを添加するか、または透析処理するかなどの方法により、過剰の過炭素酸を消費、または除去した後、これに還元剤を加えて還元させる。

例えば、熱水、希酸、希アルカリなどの溶出剤、望ましくは、pH 7.0 を越えるアルカリ性水溶液、とりわけ 0.01 乃至 4.0 N の水酸化カリウム、水酸化ナトリウム、水酸化マグネシウム、水酸化カルシウムなどの希アルカリ性水溶液と接触せしめ、オーレオバシランを溶出し、オーレオバシラン溶液を採取する。

本溶液を、必要により濃縮、中和などした後、常法に従って、活性炭、イオン交換樹脂などにより脱色、脱塩精製し、濃縮、乾燥してオーレオバシランの白色粉末を得る。

また、オーレオバシラン水溶液を、メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトンなどの有機沈澱剤で処理したり、クロマトグラフィーにかけたりして分画精製し、超遠心的および電気泳動的に均一な高純度オーレオバシラン画分を採取することは容易に実施でき、更に、これを乾燥し、粉末化することも容易である。

この際の乾燥方法としては、通風乾燥、熱風乾燥、噴霧乾燥、ドラム乾燥、凍結乾燥などの方法

また、必要ならば、酸化反応液からポリアルデヒド型オーレオバシランを分離採取した後還元してもよい。

還元する方法は、オーレオバシランの酸化物が還元できればよく、例えば、ニッケル触媒による水素還元、水素化硼素ナトリウムによる還元などが適宜選択できる。このようにして還元した反応液は、常法に従って、ニッケル触媒を除去するか、または水素化硼素ナトリウムを有機酸を添加するなどして分解させた後、有機沈澱剤で水溶液からの沈澱を繰り返すか、また、必要ならば、活性炭、イオン交換樹脂などで脱色、脱塩して精製し、濃縮して、ポリオール型オーレオバシランのシラップ製品を、更に、乾燥、粉末化してポリオール型オーレオバシランの粉末製品を採取することも容易である。このポリオール型オーレオバシランは、オーレオバシランの主鎖に含まれる β -1,3 結合しているグルコース残基には変化なく、側鎖のグルコース残基および主鎖に含まれる β -1,6 結合しているグルコース残基が開環してポリオール型

となったものである。

このようにして得られるオーレオバシランまたはポリオール型オーレオバシランは、化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に自由に利用できる。化学工業用途としては、オーレオバシランが水可溶性の多糖であることから、これを含有せしめた組成物、成形物、例えば、顆粒、錠剤、シートなどが単独で、または他の材料と併用して自由に製造できる。また、ポリオール型オーレオバシランは、水易溶性であることから、例えば、糊剤、粘質剤、乳化剤、糸、フィルム、被覆膜などの製造原料として好適である。

食品工業用途としては、オーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、共に、無味、無毒で、不消化乃至難消化性の食物繊維であり、コレステロール低下作用、重金属排泄促進作用などを有していることから健康増進食品などの配合剤として有利に利用できる。

また、医薬品用途としても自由に利用できるが、とりわけ、細胞性免疫賦活による顕著な抗腫瘍作

用が見いだされたことより、抗腫瘍剤として好適である。

従って、オーレオバシラン、若しくはポリオール型オーレオバシランは、単独で、または、これらのいずれかに1種若しくは2種以上の薬剤、補助剤などを含有せしめることにより、例えば、注射薬、内服薬、外用薬などとして、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン感受性の悪性腫瘍、例えば、乳癌、肺癌、膀胱癌、子宮癌、大腸癌、胃癌、白血病、リンパ腫、皮膚癌などの治療に有利に用いることができる。

この治療に際して、他の抗腫瘍剤、例えば、シクロフォスファミド、塩酸ニムスチンなどのアルキル化剤、メソトレキサート、フルオロウラシル、テガフルなどの代謝拮抗剤、ブレオマイシン、マイトマイシンC、アクチノマイシンCなどの抗生物質、硫酸ビンクリスチン、硫酸ビンブラスチンなどのアルカロイド、プレドニゾン、メチルテストステロン、結合型エストロゲンなどのホルモン剤、インターフェロン、リンホトキシン、ツモ

アネクロシスファクター、IL-2などのリンホカインなどの一種または二種以上と併用して、その治療効果を更に高めることも有利に実施できる。

次に、実施例を使って、オーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランの抗腫瘍作用、毒性、用法および用量について説明する。

実験 1.

4週令のICR-JCL雄マウスを各群10匹とし、Sarcoma 180腹水ガン約 6×10^5 を右鼠蹊部に移植した。移植後1日目から、実施例1の方法で得たオーレオバシラン、または実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランを、マウス kg 当り、それぞれ1 μg 、5 μg 、10 μg を含む生理食塩水として、1日1回、0.1 ml ずつ、連日10日間、腹腔内に注射した。対照は、オーレオバシラン、または、ポリオール型オーレオバシラン無含有の生理食塩水を、同様に投与した。移植後、35日目に解剖して腫瘍をとり出し、重量を測定し、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラ

ン投与群の腫瘍重量を、対照群のそれと比較して、腫瘍増殖抑制率(%)を求めた。

$$\text{腫瘍増殖抑制率(\%)} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

但し、Aは対照群の10匹の平均腫瘍重量を示し、Bはオーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン投与群のそれぞれの10匹ずつの平均腫瘍重量を示す。

結果は、第1表に示す。

第 1 表

	投与量 mg/kg/日×回	平均腫瘍重量 (g)	腫瘍抑制率 (%)	完全退縮数 (匹)	備考
オーレオバシラン	0×10×1	9.6±1.4	—	0	対 照
	1×10×1	0.3	96.9	9	本 発 明
	5×10×1	0	100	10	本 発 明
	10×10×1	0	100	10	本 発 明
	1×10×1	0.4	95.8	9	本 発 明
	5×10×1	0	100	10	本 発 明
	10×10×1	0	100	10	本 発 明
	1×10×1	0	100	10	本 発 明
	5×10×1	0	100	10	本 発 明
	10×10×1	0	100	10	本 発 明
	1×10×1	0	100	10	本 発 明
	5×10×1	0	100	10	本 発 明
ポリオール型 オーレオバシラン	10×10×1	0	100	10	本 発 明
	1×10×1	0	100	10	本 発 明
	5×10×1	0	100	10	本 発 明
	10×10×1	0	100	10	本 発 明

後、23日目に解剖して腫瘍をとり出し、重量を測定して、実験1と同様に腫瘍増殖抑制率(%)を求めた。

結果は、第2表に示す。

第 2 表

	投与量 mg/kg/日×回	平均腫瘍重量 (g)	腫瘍抑制率 (%)	備考
オーレオバシラン	0×10×2	8.4±0.5	—	対 照
	0.02×10×2	5.7±0.4	32.1	本 発 明
	0.1×10×2	5.0±0.6	40.5	本 発 明
	1×10×2	3.9±0.5	53.6	本 発 明
	0.02×10×2	5.9±0.5	29.8	本 発 明
	0.1×10×2	5.1±0.4	39.3	本 発 明
	1×10×2	4.2±0.6	50.0	本 発 明
	0.02×10×2	5.3±0.6	36.9	本 発 明
	0.1×10×2	4.0±0.7	52.4	本 発 明
	1×10×2	2.9±0.5	65.5	本 発 明
	0.02×10×2	5.4±0.6	35.7	本 発 明
	0.1×10×2	4.2±0.7	50.0	本 発 明
ポリオール型 オーレオバシラン	1×10×2	3.0±0.6	64.3	本 発 明

第1表の結果から明らかなように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、悪性腫瘍の増殖抑制にきわめて効果的である。

本実験は、他の温血動物、例えば、ヒト、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラットなどの哺乳類、ニワトリ、ハトなどの鳥類などにおいても、その効果を同様に発現するものと認められている実験である。

実 験 2

体重約25gのBDF₁雄マウスを各群10匹とし、2mm角に切断したルイス(Lewis)肺癌を、背部皮下に移植した。移植後8日目から実施例1の方法で得られたオーレオバシラン、または実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオバシランを、マウス10匹当たり、それぞれ0.02mg、0.1mg、1mgを含む生理食塩水として、1日2回、0.1mlずつ、連日10日間、静脈注射した。対照は、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン無含有の生理食塩水を、同様に投与した。移植

第2表の結果から明らかなように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、治療がきわめて困難とされている肺ガンなどの悪性腫瘍に対しても、顕著な増殖抑制効果が見られる。

実験 3.

4週令マウスを用いて、実施例1の方法で得られたオーレオバシランおよび実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオバシランを、常法に従って、経口、腹腔内、または静脈の投与経路で急性毒性テストを行なった。

その結果、両β-グルカンともに、きわめて低毒性の物質であって、投与可能な最大投与量においても、死亡例は認められなかった。

従って、正確な値とは言えないが、両β-グルカンともそのLD₅₀値は、

経口投与の場合	20g以上/Kg
腹腔内投与の場合	5g以上/Kg
静脈投与の場合	1.5g以上/Kg

であった。

培地 20 Lに無菌的に植菌し、27℃で5日間通気攪拌培養を行なった。菌体はプレコートフィルターにて尹別した。

尹液は、常法に従って精製、濃縮、粉末化してブルラン粉末約1.4 Kgを採取した。

一方、尹別された湿菌体は乾物として約200gであった。本菌体を、温水で洗浄した。この洗浄菌体を菌体破砕機(商品名 Dino Mill)で破砕後、遠心分離して細胞壁を採取し、これをアセトンで脱脂し得られた細胞壁に0.5 N水酸化ナトリウム4 Lを加え、窒素気流中で25℃で4時間ゆっくり攪拌を続け、次いで遠心分離し、この上清を水道水で透析し、更に濃縮乾燥して約8gの粗オーレオバシランを採取した。この1gを0.01 Mリン酸塩緩衝液(pH 7.8) 200 mlに溶解し、DEAE-セルロースカラムにかけ、その非吸着画分を透析し、濃縮、凍結乾燥、粉末化して白色のオーレオバシランA粉末約400mgを得た。

本品をセファロースCL-6Bを用いるゲル尹過法によって分子量を求めたところ、100,000乃至

以上の実験からも明らかなように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、その有効用量からも極めて安全であり、悪性腫瘍の治療に有利に用いることができる。その投与方法としては、悪性腫瘍を治療しうる方法であればよく、例えば、皮下、筋肉内、腹腔内、静脈などへの注射、経口投与、座剤として投与、外用剤として塗布、点滴などの投与が適宜選択できる。

本発明のオーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシランの成人1日当りの用量は、投与方法によっても変わるが、通常、0.1mg乃至500gであり、例えば、経口の場合10mg乃至500g、注射の場合0.1mg乃至100g程度が用いられる。

以下、本発明の実施例を述べる。

実施例 1. オーレオバシラン

オーレオバシディウム ブルランス IFO 4464を澱粉部分分解物(D.E.40) 10g、K₂HPO₄ 0.2g、ペプトン 0.2g、NaCl 0.2g、MgSO₄・7H₂O 0.04g、FeSO₄・7H₂O 0.001gからなる

200,000であった。また、本品を窒素気流下で1N水酸化ナトリウムで1.0g水溶液を調整し、比旋光度を測定したところ、 $[\alpha]_D^{25} + 1^\circ$ であった。更に、本品の赤外線吸収スペクトルを、KBr錠剤法で測定したところ、図面の結果を得た。

一方、DEAE-セルロース吸着画分は、0.1 N水酸化ナトリウム水溶液で溶離し、前記の非吸着画分の場合と同様に精製し、粉末化して白色のオーレオバシランB粉末約500mgを得た。

本品の分子量、比旋光度、赤外線吸収スペクトルをオーレオバシランAの場合と同様に求めたところ、分子量は350,000乃至450,000であり、比旋光度は、 $[\alpha]_D^{25} - 1^\circ$ であった。また、赤外線吸収スペクトルは、図面の結果とほぼ同一のパターンを示した。

このようにして得られた各種オーレオバシランは、化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に有利に利用できる。

実施例 2

シュクロース 8w/v、酵母エキス 0.2w/v

多、コーンステイブリーカー 0.3w/v多、
 NH_4NO_3 0.1w/v多、 K_2HPO_4 0.1w/v多、
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05w/v多、 $\text{KC}\ell$ 0.05w/v多、
 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.0001w/v多 および水からなる
 液体培地 20 ℓ を120℃で20分間滅菌した後、冷
 却し、始発pHを7.0として、オーレオバンディウ
 ム ブラン ス IFO 6353を植菌し、30℃で4
 日間通気攪拌培養した。この培養液から実施例1
 と同様に処理して、上清からブルタン粉末約0.7
 kgを採取し、菌体から粗オーレオバシラン約7g
 を採取した。

この粗オーレオバシラン1gを0.01N水酸化ナ
 トリウム水溶液500mlに溶解し、常法に従って、
 活性炭で脱色し、H型、OH型イオン交換樹脂で
 脱塩して精製し、更に濃縮、凍結乾燥し粉末化し
 て白色の高純度オーレオバシラン粉末約800mgを
 得た。本品は、オーレオバシランAおよびBを含
 有しており、その比旋光度は $[\alpha]_D^{25} 0^\circ$ であった。

本品は、実施例1と同様に各種用途に有利に利
 用できる。

実施例4 フィルム

実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバ
 シランAの乾物に対して、グリセリンを10w/w
 多含有するポリオール型オーレオバシランAの
 10w/v多水溶液を調製し、これをガラス板上に
 流延して70℃の熱風で乾燥し、透明で強靱なフ
 イルムを得た。

本品は、透明で光沢があり、強靱である。また、
 酸素透過度においても、ガスバリアー性の大きい
 ことにより、酸化されやすい物品を被覆、または
 密封することが容易であり、それら物品の貯蔵期
 間、有効期間を大幅に延長することができる。

実施例5 繊維

実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバ
 シランBの20w/v多を含む防糸原液を80℃にし
 て、直径0.3mm、長さ1mmの円筒状ノズルより、
 圧力を3kg/cm²かけて窒素の空気中にストランド
 を押し出し、水分を蒸散乾燥させつつ巻取機にて
 巻き取った。

得られた繊維の太さは、約20ミクロンで、強靱

実施例3 ポリオール型オーレオバシラン

実施例1の方法で得たオーレオバシランAまた
 はオーレオバシランBの10gを、メタ過次素酸ナ
 トリウム(NaIO_4) 6.6gを含む水溶液500mlに
 懸濁し、10℃で7日間、暗室にて攪拌しつつ酸化
 反応させた。この反応液を水に対して透析し、透
 析内液に水素化硼素ナトリウム(NaBH_4) 1.5g
 を加え、室温で2日間還元反応を行なわせした後、
 酢酸を加えてpH6.0とし、過剰の水素化硼素ナト
 リウムを分解し、更に水に対して透析した。

この透析内液に対して、3倍容のメタノールを
 加え、遠心分離して沈殿物を採取し、この沈殿物
 を水に溶解し、再沈殿させた後、水に溶解し、凍
 結乾燥、粉末化して白色のポリオール型オーレオ
 バシランA粉末またはポリオール型オーレオバシ
 ランB粉末の約7.5gを得た。

本品は、原料のオーレオバシランよりも水に対
 する溶解性に優れており、化学工業、食品工業、
 医薬品工業などの各種用途に有利に利用できる。

であった。この繊維は、燃ることも、融むことも、
 織ることもできる。しかも、親水性であって、無
 毒であり、皮膚への刺激がないという特徴を有し
 ているので、例えば、脱脂綿、生理綿、ガーゼ、
 手術糸などとして、また悪性腫瘍治療用として、
 例えば、体内へ埋め込み成形物などとして有利に
 利用できる。また、他の繊維と混紡すれば、その
 吸湿性、非帯電性、染色性を生かして、肌着、そ
 の他衣料としても使用することができる。

実施例6 被覆膜

実施例2の方法で得た粗オーレオバシランの
 0.5w/v多水溶液を35℃とし、これに産卵後、10
 時間以内の新鮮卵を30秒間浸漬し、次いで、30℃
 の熱風で1時間乾燥して、卵表面上に被覆膜を形
 成させた。この被覆膜を形成させた卵を、室温
 (15~25℃)で保存して、その可食期間を対照の
 無処理卵と比較した。その結果、被覆膜を形成さ
 せた卵の保存期間は、約5~10倍にも延長された。

実施例7 カップ

実施例1の方法で得たオーレオバシランA粉末

を、攪拌しつつ水を噴霧して含水率を約 30 w/w %とし、これを押し出し成形機にかけてストランドを調製し、これを裁断して直径 25mm、長さ 4mm のペレットを製造した。このペレットを射出成形機に供給し、樹脂温度 120℃にてカップ成形用金型内に射出注入して成形した。強靱、かつ半透明なカップが得られた。

実施例 8 肥料杭

配合肥料 (N = 14 %, P_2O_5 = 8 %, K_2O = 12 %) 70 部、実施例 1 の方法で得た粗オーレオバシラン 10 部、硫酸カルシウム 15 部、水 5 部とを充分混合した後、押出機 (L/D = 20、圧縮比 = 18、ダイスの口径 = 30mm) で、80℃に加熱して肥料杭を製造した。

本品は、肥料用容器が不要で取扱い容易であり、全層施肥に適した強度を有し、さらに配合割合を変えることにより、肥料成分の溶出速度を調節できるものである。

実施例 9 カプセル

実施例 3 の方法で得たポリオール型オーレオバ

シラン A 2 部、10 %食塩水約 40 部をよく混合した後、これを蒸し上げ、更によく練り上げ、次いで、麵帯生地を調製して一夜放置した。これを細断して麵線にし、沸騰水中で 3 分間ゆでて調理麵を得た。この麵は、こしの強い麵であった。

実施例 12 珍味

トリ肉のミンチ 30 部を砂糖 2 部、醤油 2 部、みりん 6 部と共にフライパンで煎りつけて調製したそばろに、実施例 1 の方法で得たオーレオバシラン B 粉末 3 部を加えて、よく混合した後、約 150 ~ 170℃で約 50 kg/cm² に加熱、加圧して結合成形し、約 1mm の厚さのシート状成形物を得た。これを適当な大きさに細断することにより、珍味とした。ビールのつまみや、子供のおやつなどに好適である。

実施例 13 魚肉練製品

解凍したスケソウナリ身 4,000 部に対し、マルトース 80 部、グルタミン酸ナトリウム 80 部、馬鈴薯澱粉 200 部、氷水 300 部、トリポリリン酸ナ

シラン A 5 w/v % およびゼラチン 10 w/v % を含有する水溶液を 60℃に加熱し、脱気した後、カプセル用金属棒を浸漬し、直ちに引き上げて 40℃の風風で徐々に乾燥した。弾性が強く、透明で光沢のある高品質の硬質カプセルが得られた。このカプセルは、径口薬、座薬などの容器として好都合である。

実施例 10 接着剤

ジメチルスルホキシド 30 部、水 25 部、実施例 2 の方法で得た高純度オーレオバシラン 2 部、ブルラン 8 部及びジベンジリデンキシリット 2 部の混合物を温度 90℃にて 1 時間攪拌し、溶解せしめた後、これを直径 14mm、高さ 50mm の円筒状の練り上げ、練り下げ可能な機構を備えた口紅式容器に注入して、室温で放冷し、固形状接着剤を製造した。本接着剤をクラフト紙に塗りつけたところ、薄く均一に塗布することができ、初期接着力も充分であった。

実施例 11 麺類

米粉 70 部、馬鈴薯澱粉 20 部、小豆粉 10 部、実

トリウム 12 部、食塩 120 部および、予め実施例 3 の方法で得たポリオール型オーレオバシラン A 10 部とソルビトール 1 部とを溶解しておいた水溶液 100 部を摺潰し、約 120g ずつを定形して板付した。

これらを、30 分間で内部の品温が約 80℃になるように蒸し上げた。続いて、室温で放冷した後、4℃で 24 時間放置して製品とした。

これらの製品は、いずれも足が強く、肌面が細やかで、艶やかな光沢を有しており、食感も良好であった。

実施例 14 揚げ物用衣

薄力粉 100 部に実施例 2 の方法で得た高純度オーレオバシラン 1 部を加え、これに水 300 部を加えて攪拌混合して衣を得た。この衣でエビ、サツマイモなどの麺を包んで揚げたところ、衣の口当りはよく、また麺へのつきもよかった。

実施例 15 アイスクリーム

40 w/w % クリーム 70 部、全脂加糖練乳 200 部、全乳 460 部、脱脂粉乳 20 部、砂糖 5 部、マルトー

ス5部及び実施例2の方法で得た高純度オーレオパシラン1.0g水溶液4部を加熱して混合し、70℃で30分間加熱殺菌した後、ホモグナイザーを通して3～4℃に急冷し、一夜熟成の後、フリーザーに入れた。

なめらかな口当りのよいアイスクリームが得られた。

実施例16. レモンゼリー

寒天3部と実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオパシランB5部を水200部、砂糖50部を加えて溶解し、続いて65℃まで冷却した。

これにレモン香料および着香料の少量を加えた炭酸水350部を混合して型に入れ、冷却して艶やかなレモンゼリーを得た。本品は、食物繊維ポリオール型オーレオパシランを含有した健康増進食品である。

実施例17. ヨーグルト

脱脂粉乳175部、砂糖80部、マルトース50部、実施例1の方法で得たオーレオパシランA30部を水1,200部に加熱溶解し、ホモグナイザーにか

けた後、約85℃で30分間加熱して殺菌し、次いで、40℃に冷却した。これに市販されているヨーグルトの乳酸菌で調製したスターター30部を植菌し、37℃で8時間培養してゲル状のヨーグルトを得た。

このヨーグルトは、なめらかで光沢もあり、口当りもよかった。本品は、オーレオパシランを含有し、コレステロール低下作用を有する健康食品である。

実施例18. 錠 剤

実施例3のポリオール型オーレオパシランAの20w/v水溶液100部に、マルトース140部、ビタミンA・パルミテート20部を加え、十分に攪拌混合した後、ガラス板上に流延し、風乾した。次いで、この乾燥物を粉末とした後、常法に従って打錠機で錠剤を製造した。打錠剤1g中には、ビタミンA・パルミテート10万IUを含有しており、30℃で3ヶ月放置した後も、ほとんど減少は認められなかった。また、本品は経口用抗腫瘍剤として、例えば、胃癌、十二指腸癌、直腸癌などの悪性腫瘍の治療剤としても、有利に利用できる。

実施例19. 錠 剤

アスピリン50部に実施例1の方法で得たオーレオパシランB14部、コーンスターチ4部を十分に混合した後、常法に従って打錠機により錠剤を製造した。

本品は吸湿性がなく、物理的強度も充分であり、しかも水中での崩壊はきわめて良好であった。

実施例20. 注 射 薬

実施例1の方法で得たオーレオパシランAを0.2w/v水溶液とし、次いで、活性炭にて脱色し、H型、OH型イオン交換樹脂で脱塩精製し、減圧濃縮し、更に、メンブランフィルターにて無菌的に通過した。得られた母液を、1バイアル当りオーレオパシランAが200mgになるように、滅菌した20ml容ガラス容器に充填し、凍結乾燥し、密栓して注射用製剤とした。本品は生理食塩水などでオーレオパシランAを溶解、または懸濁して、皮下、または筋肉内などに注射し、例えば、乳癌、肺癌、肝癌、白血病などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

実施例21. 注 射 薬

実施例3の方法で得たポリオール型オーレオパシランBを約2w/v水溶液とし、次いで、実施例20と同様に活性炭、イオン交換樹脂にて脱色、脱塩精製し、濃縮し、メンブランフィルターにて無菌的に通過した。得られた母液を、ポリオール型オーレオパシランB2w/vの等張溶液とし、20ml容アンプルビンに充填し、滅菌して注射用製剤とした。

本品は、腹腔内、静脈などに注射し、例えば、乳癌、膀胱癌、子宮癌、大腸癌、胃癌などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

実施例22. 軟 膏

実施例2の方法で得た高純度オーレオパシラン粉末を、少量の流動パラフィンを加えて研和した後、ワセリンを加え10g/gの軟膏薬とした。

本品は、例えば、皮膚癌、乳癌、リンパ腫などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

(発明の効果)

上記したことから明らかなように、本発明の

ーD-グルカン(オーレオバシラン)およびこれから誘導されるポリオール型オーレオバシランは、無味、無毒の不消化乃至難消化性の食物繊維であり、コレステロール低下作用、重金属排泄作用などを有していることから、健康増進食品の配合剤として好適であり、また、強い抗腫瘍作用を有していることから、各種悪性腫瘍の治療剤などとして、更に、錠剤、フィルム、シートなど各種成形物、組成物の製造にも有利に利用できる。

オーレオバシランの大量製造方法としては、オーレオバシディウム属に属する微生物の培養物から分離採取すればよく、とりわけ、オーレオバシランとブルランとを共に産生させ、これらを分離し採取する方法は、工業的製造方法としてきわめて有利に実施できる方法である。

4. 図面の簡単な説明

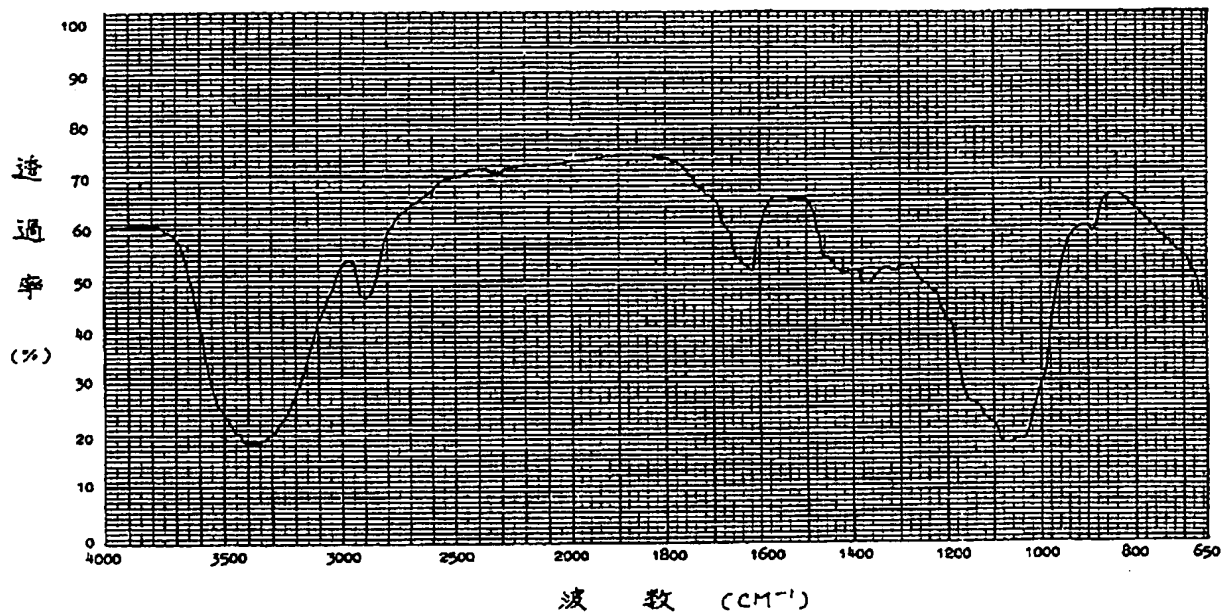
図面は、オーレオバシランの赤外線吸収スペクトルを示す図である。

特許出願人

株式会社林原生物化学研究所

代表者 林 原

健 泰



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
【部門区分】第3部門第3区分
【発行日】平成6年(1994)3月15日

【公開番号】特開昭62-201901
【公開日】昭和62年(1987)9月5日
【年通号数】公開特許公報62-2020
【出願番号】特願昭61-44189
【国際特許分類第5版】

C08B 37/00 Z 7433-4C
A61K 31/715 ABA
ADU 8314-4C
47/36 A 7433-4C
B 7433-4C
D 7433-4C
H 7433-4C

手 続 補 正 書

平成5年3月2日

特許庁長官 麻 生 健 殿

1. 事件の表示

昭和61年特許願第44189号

2. 発明の名称

B-D-グルカンとその製造方法及び用途

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

株式会社林原生物化学研究所

代表者 林 原 健



4. 補正の対象

明細書における「発明の詳細な説明」の項

5. 補正の内容

- (1) 明細書第16頁第6～7行に記載の「本発明は、化学工業、食品工業、医薬品工業など」を、「本発明は、化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業など」と補正します。
- (2) 明細書第19頁第5行に記載の「食品工業、化学工業など、」を、「化粧品、食品工業、化学工業など、」と補正します。
- (3) 明細書第35頁第3～5行に記載の「化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に自由に利用できる。化学工業用途としては、」を、「化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に自由に利用できる。化粧品、化学工業用途としては、」と補正します。
- (4) 明細書第46頁第17行に記載の「化学工業、食品工業、医薬品工業など」を、「化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業など」と補正します。
- (5) 明細書第48頁第18～19行に記載の「化学工業、食品工業、医薬品工業など」を「化粧品、化学工業、食品工業、医薬品工業など」と補正します。